



Número especial XXXIII Congreso Nacional de Química Analítica (CNQA)

CONTENIDO

Aplicación de análisis por inyección secuencial en la determinación de manganeso en vino de Baja California

Análisis proximal y determinación de propiedades funcionales de tres variedades de orujo de uva tinta (*Vitis vinifera*) del sureste de Coahuila

Electrodos de pasta de carbono modificados con un polímero impreso para la determinación electroquímica de plomo (II)

Desarrollo de un nuevo método para la remoción de Cd, Ni y Pb presente en agua utilizando ferritas de cobalto con estructura tipo espinela inversa

Metales Presentes en el Material Particulado PM2.5 Recolectado Durante el verano del 2016 en Saltillo, Coahuila. Estudio Preliminar

Coagulación de agua residual doméstica con policloruro de aluminio

Ventajas y desventajas en la enseñanza remota de las titulaciones en un laboratorio virtual

Uso de la Terminología Correcta en la Química y el Manejo de Expresiones Algebraicas para Determinar Incertidumbres en Mediciones Indirectas

Evaluación de la Fertilidad de Suelo, con Posibilidades de Sembrar Tabaco, en un Predio Ubicado en Jalapa, Tabasco

Inhibición en el crecimiento de *Streptococcus mutans* en material dental mediante el uso de luz ultravioleta LED

Sargazo, ensayo para medir su capacidad antioxidante y posibles compuestos presentes en el extracto

Equilibrios de complejación de fármacos/Zn(II) y fármacos/ciclodextrinas por calorimetría de titulación isotérmica

Electropolimerización de 5Aphen en un disolvente eutéctico profundo (DES) sobre un electrodo de carbón vítreo y su aplicación dirigida a la detección de dopamina

Sensor electroquímico basado en Cu(II)-BTC Metal-Organic Framework para la cuantificación de metanol en medio alcalino

Carbón activado modificado con plasma frío a partir de carbón mineral de la región carbonífera de Coahuila

Cálculo de las constantes de unión del complejo dorzolamida-laponita a tres valores de pH para la optimización de la formulación de una película utilizada para el tratamiento del glaucoma

Caracterización fisicoquímica de metabolitos secundarios obtenidos a partir de la extracción acuosa de Rosa gallica

Comparación de dos métodos analíticos para la determinación de hidroclorotiazida en medicamentos

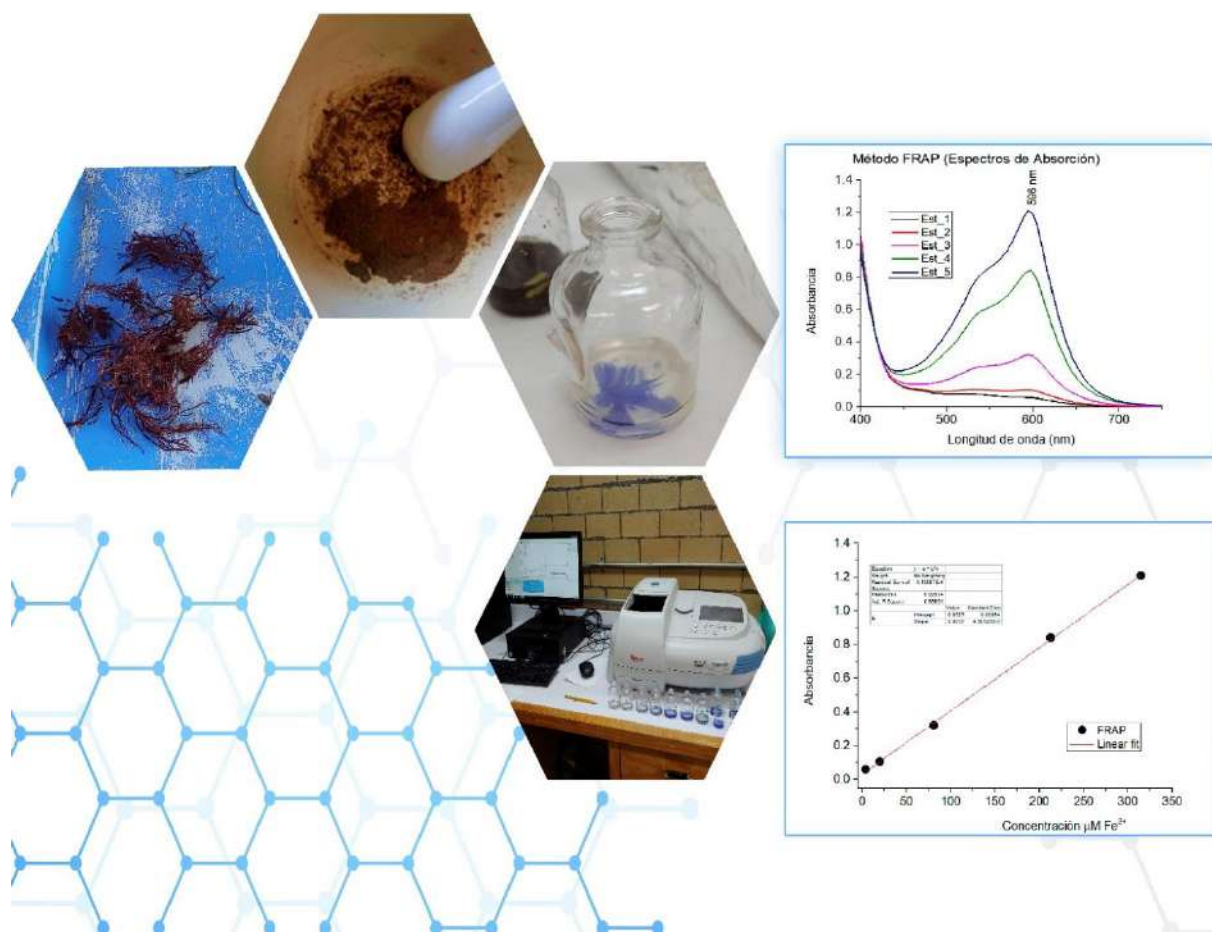
Determinación electroquímica de hidrocortisona en electrodos de pasta de carbono y electrodos de pasta de carbono modificados con óxido de grafeno

Extracto de *Taraxacum officinale* (diente de león) como inhibidor del proceso de hidrólisis mediante la acción de la enzima α -amilasa sobre el almidón con antecedente hipoglucemiante

CienciAcierta, año 16, No. 68, octubre-diciembre de 2021, es una publicación trimestral editada por la Universidad Autónoma de Coahuila, boulevard Venustiano Carranza s/n colonia República Oriente, C.P. 25380, Saltillo, Coahuila, Editor Responsable: Ing. Carlos Federico Robledo Flores. Reserva de Derechos al uso exclusivo **No. 04-2019-010914143600-203**, **ISSN: 2683-1848**, ambos otorgados por el Instituto Nacional del Derecho de Autor. Responsable de la última actualización de este Número, Departamento de Divulgación Científica de la Dirección de Investigación y Posgrado UA de C, Ing. Carlos Federico Robledo Flores, Edificio "D" planta alta, unidad Camporredondo, Saltillo, Coahuila, C.P. 25280, fecha de última modificación, 11 de febrero de 2021.

Sargazo, ensayo para medir su capacidad antioxidante y posibles compuestos presentes en el extracto

Sargassum, assay to measure its antioxidant capacity and possible compounds present in the extract



Arlett Gisela Gómez Carrasco, Stephany Ramírez Arenas, María Teresa de Jesús Rodríguez Salazar, Minerva Monroy Barreto*

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química, Departamento de Química Analítica, Circuito Exterior S/N, Coyoacán, Cd. Universitaria, 04510 Ciudad de México, CDMX,

* Correspondencia para autor: Minerva Monroy Barreto
 Universidad Nacional Autónoma de México
 Correo electrónico: monroy17@unam.mx

Resumen

El sargazo es un género de macroalgas de la clase de algas pardas, algunas especies de estas macroalgas son consumidas como parte de la dieta debido a que son un reservorio de compuestos biológicamente activos; por ejemplo, ácidos grasos omega-6, antioxidantes, alginatos, carotenoides y compuestos fenólicos. Muchos de estos compuestos presentan propiedades antioxidantes las cuales juegan un importante papel en el tratamiento de algunas enfermedades (inflamación crónica, cáncer, desordenes cardiovasculares) en procesos de oxidación y envejecimiento.

Con el fin de evaluar la capacidad antioxidante se han desarrollado diferentes métodos; principalmente, los basados en una reacción de transferencia de electrón; y, los basados en una reacción de transferencia de átomo de hidrógeno entre el antioxidante y el radical libre. Por sus siglas en inglés, SET y HAT respectivamente.

En este trabajo se presenta la determinación preliminar de antioxidantes en una muestra de Sargazo que se recolectó de la zona costera de Campeche (Champotón) en diciembre de 2019, la muestra se lavó con agua potable y fue refrigerada. La revisión bibliográfica permitió establecer las condiciones experimentales de extracción y análisis. La muestra se secó a la sombra durante 72 horas y posteriormente en la estufa a 80 °C durante 16 h, se realizó la extracción con etanol a temperatura ambiente durante 24 h y la relación disolvente: muestra seca de sargazo fue 1:10. El extracto fue tratado según lo reportado por Benzie y Strain (1999). La capacidad antioxidante se evaluó empleando la capacidad reductora del Fe^{3+} (Método FRAP, por sus siglas en inglés). Se investigaron los posibles compuestos que pueden aportar al valor de la capacidad antioxidante.

Palabras Clave: sargazo, antioxidantes, FRAP, alga parda

Abstract

Sargassum is a genus of macroalgae in the class of brown seaweeds. Some species of these macroalgae are consumed by people, because they are a reservoir of biologically active compounds; for example, omega-6 fatty acids, antioxidants, alginates, carotenoids and phenolic compounds a lot of which offer potential medicinal uses against some diseases (chronic inflammation, cancer, cardiovascular disorders) in oxidation and aging processes.

In order to assess the antioxidant capacity two types of methods are generally used. One type is based on (a) a single electron transfer (SET) which depends on the potential of the antioxidant to reduce certain molecules and compounds by transferring an electron. (b) The other type is based on a hydrogen atom transfer (HAT) method which donates a hydrogenion from a stable molecule thus allowing the antioxidant to scavenge the reactive oxygen species.

This study provides evidence of antioxidant capacities of sargassum from a sample collected in December 2019 in the coastal area of Campeche (Champotón). The samples were washed thoroughly with fresh water and kept cool. A literature review allowed us to establish the experimental conditions (extraction and analysis). Sargassum was shade dried for 72 h and subsequently in the oven at 80 °C for 16 h. Extraction was carried out with ethanol at room temperature for 24 h and sargassum/solvent ratio was 10:1. The algal extract was carried out as described by Benzie & Strain (1999). The antioxidant capacity was evaluated using Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP). Possible compounds that can contribute to the value of antioxidant capacity were investigated

Key words: sargassum, antioxidant, FRAP, brown seaweed

Introducción

El sargazo es un género de macroalgas de la clase de algas pardas, algunas especies de estas macroalgas son consumidas como parte de la dieta debido a que son un reservorio de compuestos biológicamente activos; por ejemplo, ácidos grasos omega-6, polisacáridos sulfatados, antioxidantes, alginatos, carotenoides y compuestos fenólicos (Pinto, 2020). Muchos de estos compuestos presentan propiedades antioxidantes, es decir, las moléculas son capaces de atrapar el electrón desapareado del radical libre e inactivarlo. Esto evita reacciones de oxidación que juegan un importante papel en los procesos de envejecimiento y en el tratamiento de algunas enfermedades (inflamación crónica, cáncer, desordenes cardiovasculares).



Figura 1. Sargazo en la playa del sitio de colecta.

Con el fin de evaluar la capacidad antioxidante se han desarrollado diferentes métodos; entre los que se encuentran los basados en una reacción de transferencia de un electrón y los basados en una reacción de transferencia de un átomo de hidrógeno entre el antioxidante y el radical libre (Queiroz, 2008). Por sus siglas en inglés, SET y HAT respectivamente. Los métodos que se basan en el mecanismo SET involucran una reacción redox (**Ecuación 1**) son muy empleados para determinar la capacidad antioxidante de extractos naturales, debido a que requieren de disoluciones que son sencillas de preparar, las mezclas de reacción son estables y las determinaciones en general emplean un cromóforo (oxidante) que se detecta espectrofotométricamente en el intervalo de luz visible, los métodos más sobresalientes son el ABTS, DPPH y FRAP (**Figura 2**).



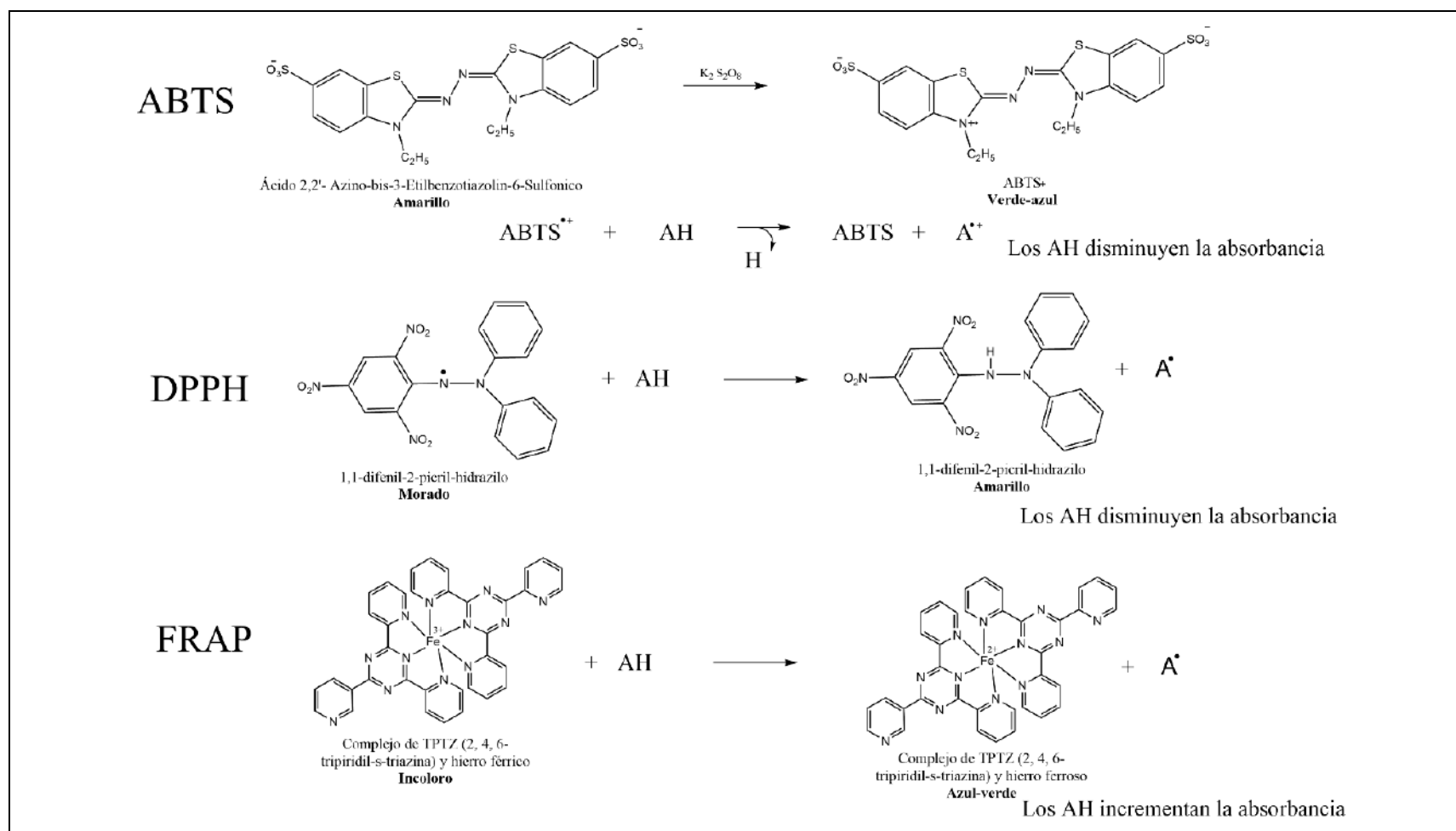


Figura 2. Ensayos para determinar actividad antioxidante basados en transferencia de un electrón.

El Ensayo de decoloración con el radical catiónico Acido 2,2'- Azino-bis-3-Etilbenzotiazolin-6-Sulfónico (ABTS) permite la determinación de antioxidantes hidrofílicos e hidrofóbicos, para ello se genera el radical $ABTS^{+\bullet}$ por medio químico o enzimático, el cual es de color verde-azul y es soluble en agua. La adición del antioxidante al catión radical disminuye el color y se relaciona con la inhibición del radical.

Ensayo de decoloración del radical 1-1-difenil-2- picrilhidrazilo (DPPH). Este ensayo solo permite la determinación de antioxidantes hidrofóbicos. La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable ($DPPH^{\bullet}$), este radical es soluble en metanol y presenta un color violeta intenso. Este color se atenúa si el $DPPH^{\bullet}$ reacciona con un compuesto antioxidante (AH) este cambio se emplea para la determinación de la capacidad antioxidante (Brand-Williams y col., 1995).

FRAP ((Ferric ion Reducing Antioxidant Power o Capacidad antioxidante para Reducir el ion Férrico del plasma) (Ensayo FRAP). El ensayo FRAP mide en presencia de un antioxidante la reducción del complejo de hierro férrico y una triazina Fe^{3+} -TPTZ a su forma ferrosa Fe^{2+} -TPTZ que es de un color azul intenso. La reacción no es específica ya que cualquier semireacción que tenga un potencial redox menor que la semireacción ($Fe^{3+} + e^{-} \rightarrow Fe^{2+}$) conducirá a la formación de Fe^{2+} . El incremento de color (absorbancia) está relacionado con el poder reductor de los antioxidantes donantes de electrones presentes en el medio de reacción (Benzie y Strain, 1996). En la literatura existen reportes sobre la capacidad antioxidante del sargazo, el cual depende del lugar y de la estación en que se colectó (Zubia y col., 2008). El presente estudio tuvo como objetivo evaluar la capacidad antioxidante de una muestra de sargazo colectada en la zona costera de Campeche en diciembre de 2019 y determinar los posibles compuestos antioxidantes presentes en el extracto obtenido. La revisión bibliográfica permitió establecer las mejores condiciones experimentales de extracción y análisis. La capacidad antioxidante se evaluó empleando el ensayo de la capacidad de reducción férrica del plasma (FRAP por sus siglas en inglés) de Benzi y Strain (1996).

Materiales y Métodos

Colección de muestra

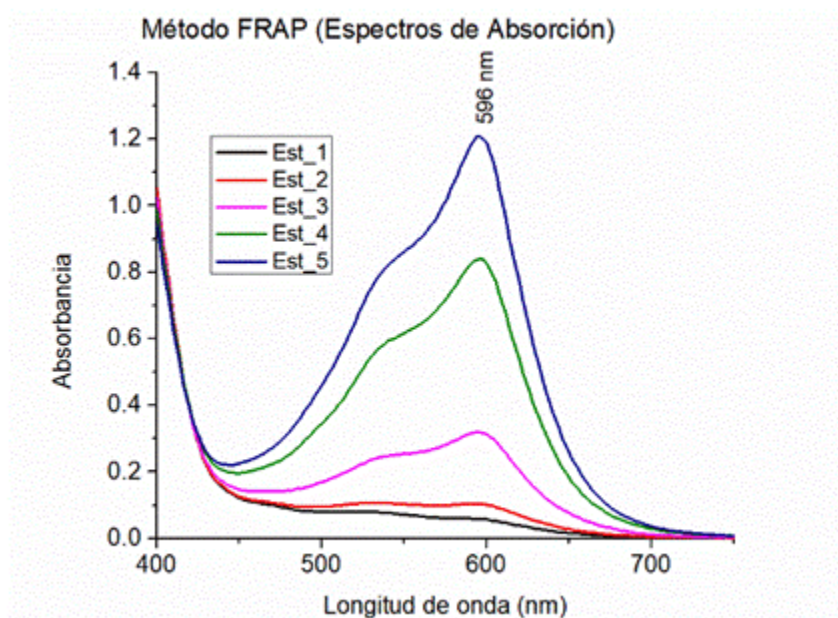
La muestra de Sargazo se recolectó de la zona costera de Campeche (Champotón) en diciembre de 2019, esta se lavó con agua potable en el sitio de muestreo y se transportó al laboratorio en bolsas de polietileno estériles.

Preparación de la muestra

Después de una extensa revisión bibliográfica, se diseñó y realizó el tratamiento de muestra, el cual consistió en secar el sargazo a la sombra durante 72 horas, después en estufa a 80 °C durante 16 horas, pulverizar y almacenar en refrigeración hasta su análisis. El extracto de sargazo se obtiene al usar etanol a temperatura ambiente durante 24 horas utilizando una relación disolvente:muestra

seca 1:10 (Dang y col., 2018; Cho y col., 2007). Después de este tiempo, la muestra se filtra y se toman alícuotas para su análisis.

a)



b)

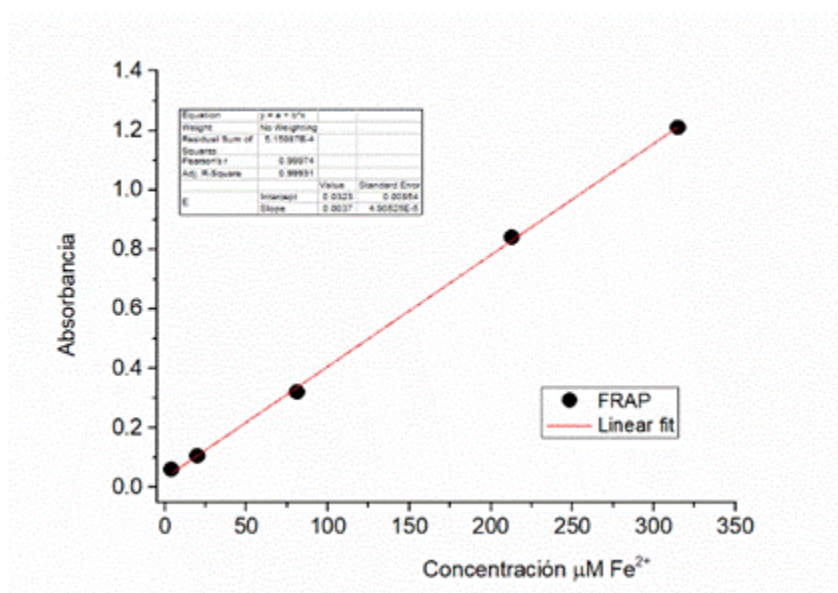


Figura 3. a) Espectros obtenidos para los estándares de calibración (4 a 314 μM de Fe^{2+}).
 b) Curva de calibración.

Método FRAP

Se realiza el procedimiento de acuerdo con el método de Benzie & Strain (1996) con algunas modificaciones, el reactivo del método FRAP se prepara el día de trabajo y para ello se elaboran 3 disoluciones a) TPTZ (2, 4, 6- tripiridil-s-triazina) 10 mM en ácido clorhídrico; b) 40 mM, cloruro férrico (20 mM) y c) buffer de acetatos 300 mM (pH=3.6) las cuales se mezclan en una relación de 1:1:10, respectivamente. Se miden 3.9 mL del reactivo FRAP y se colocan en un recipiente donde se mezclan con 500 μ L del extracto etanólico. La absorbancia se mide a $\lambda=596$ nm con un espectrofotómetro (Thermo Scientific, Evolution 201 UV-Visible Spectrophotometer). El ácido gálico se usó como control positivo. Se prepararon estándares de 4 a 314 μ M Fe^{2+} y los resultados se expresan en μ M Fe^{2+} /g muestra seca.

Resultados y Discusión

El objetivo del trabajo fue determinar el contenido de antioxidantes en la muestra de sargazo, empleando el método FRAP, bajo las condiciones experimentales descritas. Los espectros de absorción obtenidos para los estándares de calibración preparados (4 a 314 μ M de Fe^{2+}) se muestran en la **Figura 3a**. El barrido espectral permitió definir la longitud de onda de máxima absorbancia ($\lambda = 596$ nm) para construir la curva de calibración. En la **Figura 3b** se presenta la curva de calibración obtenida, en que se observa una relación lineal entre la absorbancia y la concentración del complejo de Fe^{2+} formado Fe^{2+} -TPTZ. El coeficiente de correlación lineal obtenido es de 0.999.

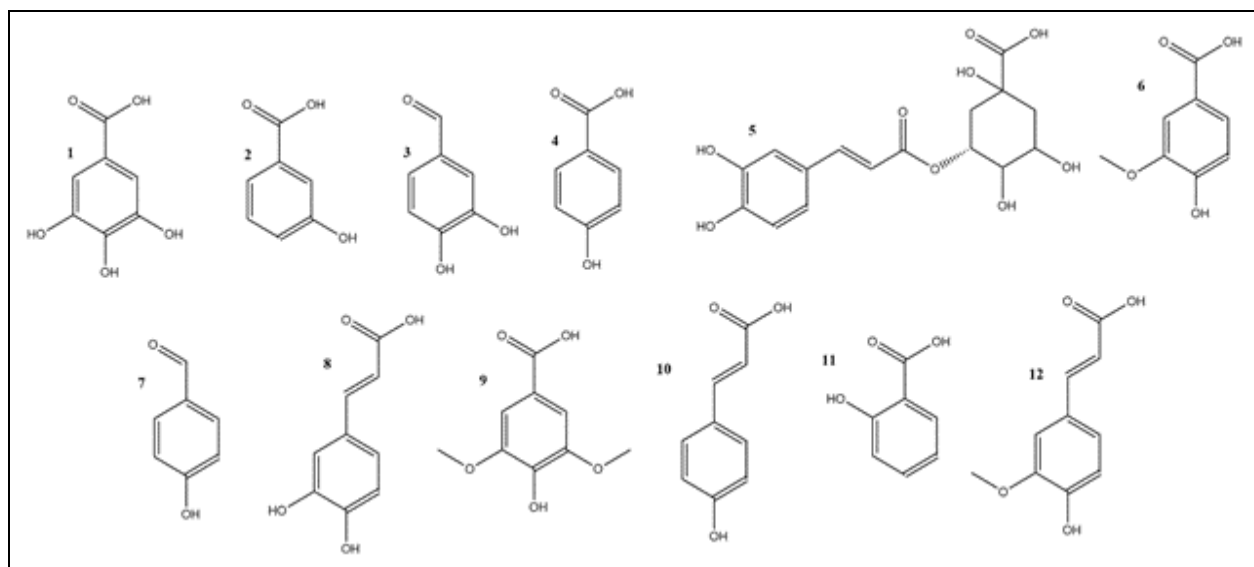


Figura 4. Compuestos fenólicos solubles en etanol encontrados en *Sargassum muticum*. (1) ácido gálico, (2) ácido protocatéquico, (3) 3,4-dihidroxibenzaldehído, (4) ácido p-hidroxibenzoico, (5) ácido clorogénico, (6) ácido vainillico, (7) p-hidroxibenzoico, (8) ácido cafeico, (9) ácido sirínico, (10) ácido p-cumárico, (11) ácido salicílico y (12) ácido ferúlico.

El ensayo FRAP permitió obtener el valor de capacidad antioxidante de $0.29 \mu\text{M}$ de Fe^{2+}/g de muestra seca en la muestra de sargazo colectada en Champotón Campeche en invierno. Este valor de la capacidad antioxidante no es un valor esperado, sin embargo, se sabe que está sujeto a una gran variabilidad, depende del lugar de colecta, temperatura, cantidad de radiación UV que incide sobre la muestra. En cierta forma una alta exposición al sol es responsable de inducir la producción de antioxidantes como defensa (Budhiyanti y col., 2012).

Para concluir el trabajo se realizó una revisión sobre los antioxidantes que se han reportado presentes en el sargazo y de acuerdo con su estructura y propiedades evaluar cuales se podrían encontrar en los extractos etanólicos.

Se ha reportado la presencia de compuestos fenólicos en extractos etanólicos de sargazo (Anaelle y col., 2013). Klejdus y col., (2017) informan la identificación de varios compuestos fenólicos en *Sargassum muticum* en extractos obtenidos después de llevar a cabo una hidrólisis **Figura 4**.

Los bromofenoles son compuestos que proporcionan el sabor característico a los organismos marinos, se cree que su presencia en estos deriva de la ingesta de algas marinas, ya que son las algas las que pueden sintetizarlos. La presencia de bromofenoles (2-Bromofenol, 4-bromofenol, 2,4-Dibromofenol, 2,6-Dibromofenol, y 2,4,6-tribromofenol) con actividad antioxidante se ha estudiado en *Sargassum siliquastrum* (Yin y col., 2003). Los bromofenoles se encuentran en extractos etéreos y de diclorometano, no así en extractos etanólicos (González y col., 2017). Es poco probable encontrar bromofenoles en nuestros extractos.

También dentro de los compuestos fenólicos que se han reportado presentes en cantidades importantes en sargazo es el floroglucinol (1,3,5-trihidroxibenceno) el cual es la unidad estructural de los florotaninos, los cuales se consideran los principales compuestos fenólicos en sargazo, los florotaninos pueden encontrarse libres o formando complejos con diferentes componentes de las paredes celulares de las algas (Li y col., 2017), lo que ha permitido encontrarlos en los extractos de etanol, estos compuestos fenólicos son esenciales para las algas pardas porque se producen como metabolitos secundarios que participan como defensa química, protección contra la radiación UV, interacciones con otros organismos. Los florotaninos encontrados en algas pardas han sido estudiados por diferentes grupos de trabajo (Gheda y col., 2021; Li y col., 2017; Nakai y col., 2006) por sus beneficios y potencial uso en terapias de diversas enfermedades. En sargazo se han encontrado florotaninos que se clasifican de acuerdo con el enlace entre las unidades de floroglucinol como son los fuhaholes/floroetoles (enlace éter), fucosles (enlace fenil), fucofloroetoles (enlace éter y fenilo) y eckoles (enlace dibenzodioxina) (**Figura 5**).

Los carotenoides son moléculas lipofílicas y toman un papel importante en la protección contra procesos foto-oxidativos en las algas pardas (Hermund, 2018). El carotenoide más abundante en el sargazo es la fucoxantina (**Figura 6**) la cual presenta un color café intenso. Es efectiva para absorber la luz, por lo que participa en la fotosíntesis como un pigmento fotosintético, su estructura es la responsable de su importante actividad antioxidante. La fucoxantina es más inestable que

otros carotenoides y se degrada fácilmente bajo la influencia de la temperatura, luz y pH, es posible encontrarla en los extractos de etanol (Nie y col., 2021).

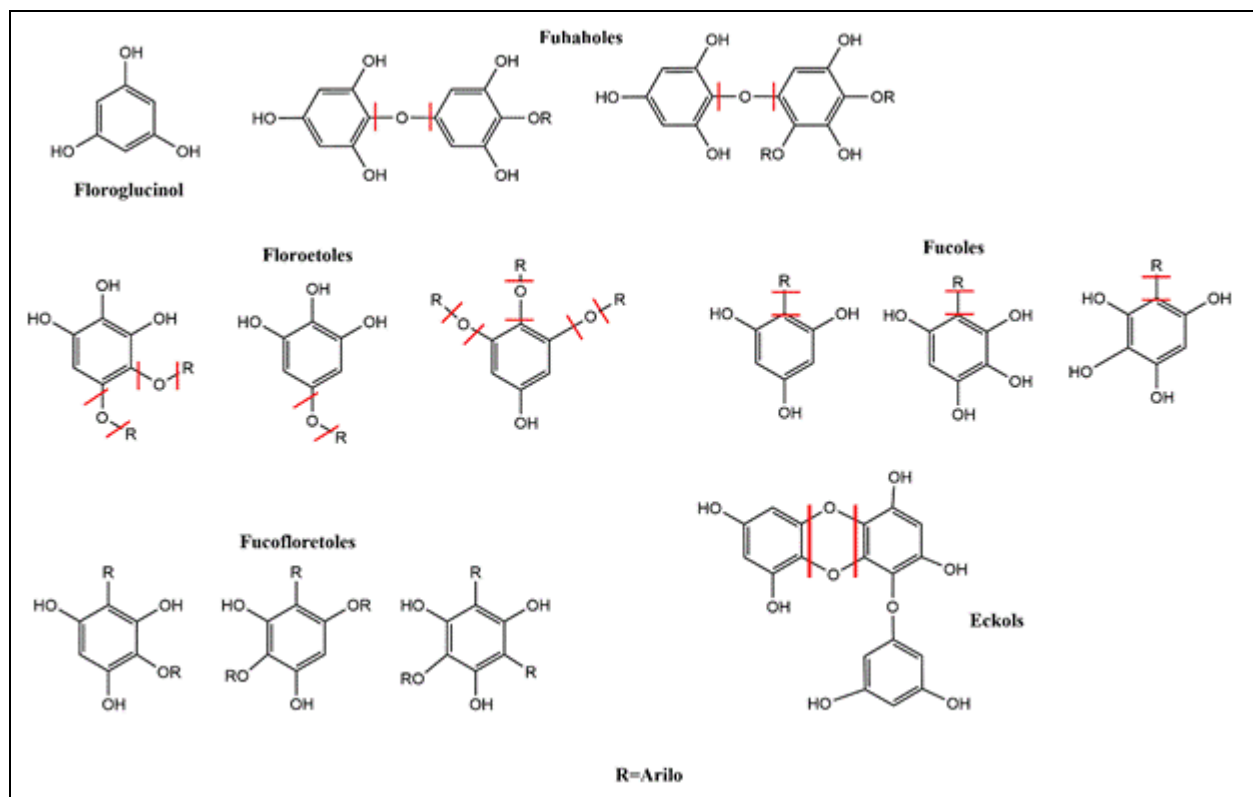


Figura 5. Estructuras de florotánicos.

Los terpenoides o isoprenoides como el loliólido (Giriwono y col., 2019) y el turberatolido B, así como las llamadas quinonas isoprenoides como el ácido sargaquinoico y sargahidroquinoico; presentan alta actividad antioxidante (**Figura 7**). Kim y col., (2020) realizaron la extracción de loliólido con metanol y confirmaron el potencial antioxidante de este monoterpénico. Lim y col., (2019) encontraron en los extractos etanólicos de *Sargassum serratifolium* altos niveles de los ácidos sargaquinoico y sargahidroquinoico.

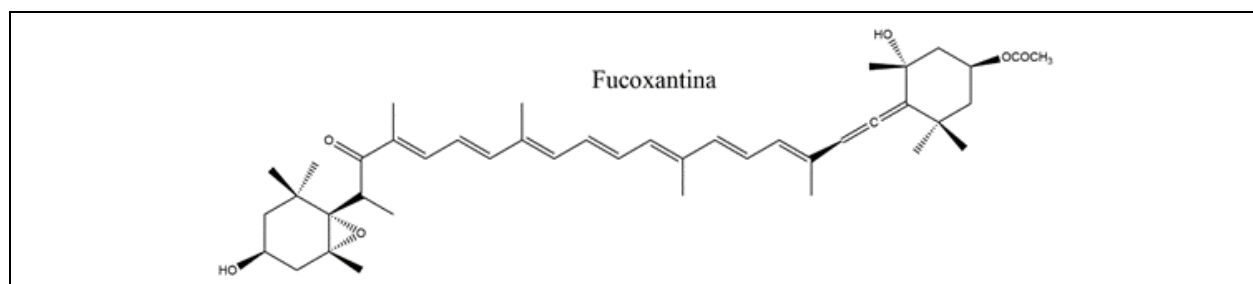


Figura 6. Estructura de la fucoxantina.

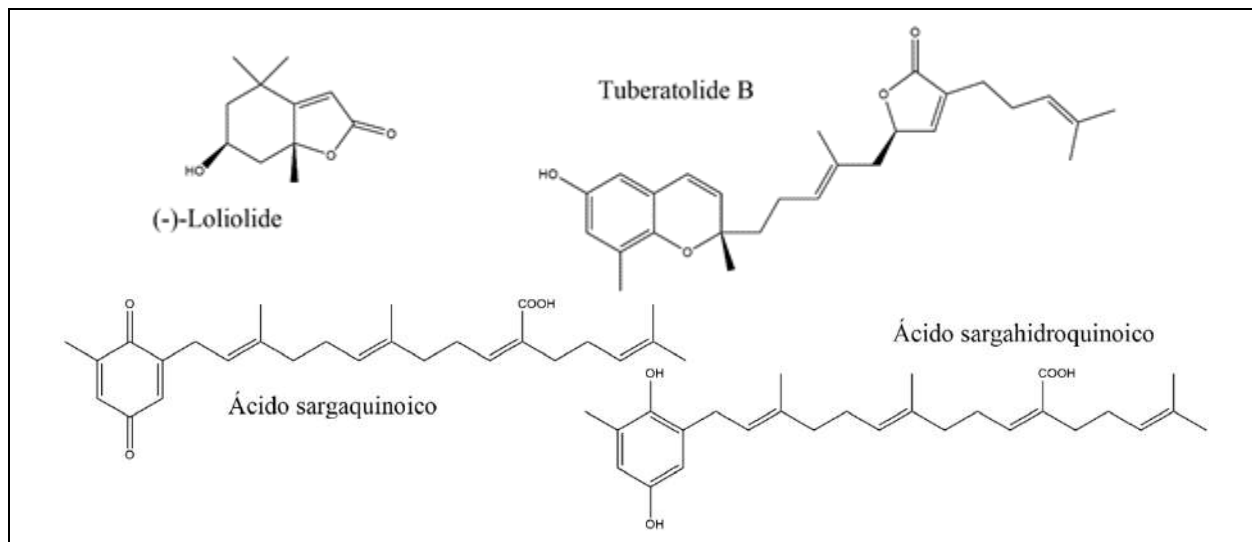


Figura 7. Estructura de terpenoides y quinonas isoprenoides.

El fucosterol (**Figura 8**) es un esteroide de las algas pardas, se ha reportado su extracción con etanol en reflujo (Zhen y col., 2015). Las investigaciones realizadas sobre este compuesto indican actividad positiva sobre la reducción de los niveles de colesterol y efecto como agente antidiabético, antioxidante y anticancerígeno (Min y col., 2020).

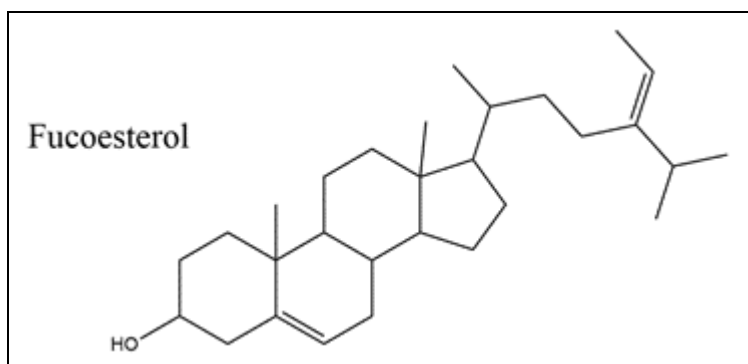


Figura 8. Estructura química del fucosterol.

Los flavonoides (**Figura 9**) son compuestos bioactivos encontrados en sargazo, los cuales funcionan como antioxidantes, entre ellos se ha encontrado el kaempferol en extractos metanólicos de *Sargassum aspirofolium*, *latifolium* y *muticum*. El kaempferol es un flavonol, altamente soluble en agua y etanol caliente (Fouda y col., 2019). Ruslin y col., (2018) usan etanol al 70 % para la extracción de flavonoides porque este disolvente tiene la capacidad de extraer compuestos en una amplia variedad de polaridades y no es tóxico; además, señalan que el método de extracción y el tipo de disolvente empleado no afecta el contenido de flavonoides en el extracto debido a que los flavonoides tienen la misma cantidad de partes polares y no polares.

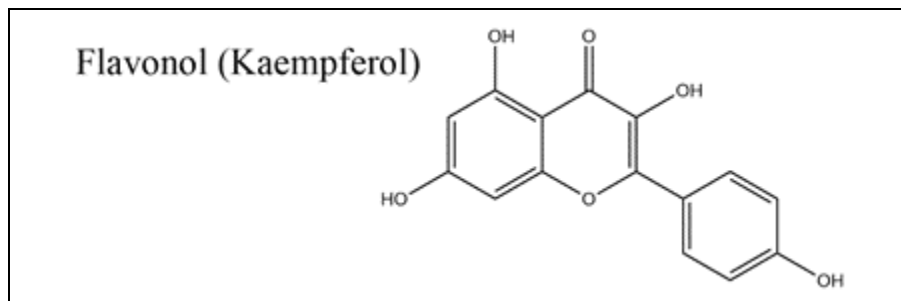


Figura 9. Estructura del kaempferol.

También está reportado que las algas pardas del género *Sargassum* contienen metabolitos secundarios estructuralmente únicos como el sargasumol, plastoquinonas, cromanoles, ciclopentenona (Iwashima y col., 2005).

El sargasumol (**Figura 10**) fue aislado de extractos de metanol del *S. micracanthum* a temperatura ambiente, fue nombrado así por el grupo de B-S. Yun, (Kim y col., 2011) y presenta actividad antioxidante.

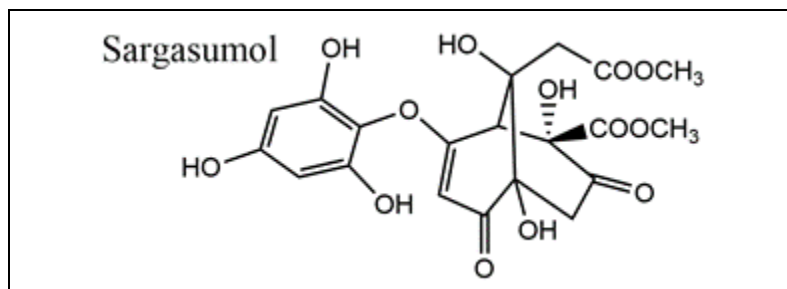


Figura 10. Estructura química del sargasumol.

La plastoquinona se biosintetiza en plantas superiores y algas; participa en el transporte de electrones involucrados en la fotosíntesis, se clasifica como una benzoquinona isoprenoide (Eyong y col., 2013), es un lípido soluble en disolventes orgánicos, por este motivo es difícil encontrarlo en el extracto etanólico, **Figura 11**.

Varios metabolitos encontrados en las algas pardas son derivados del cromeno (benzopirano), los cuales poseen propiedades fotoquímicas, exhiben citotoxicidad y actividad antioxidante (Hwa y col., 2005). También se ha reportado que la sustitución en el núcleo de cromeno con diferentes grupos aumenta la capacidad de la molécula para prevenir enfermedades, en sargazo se han encontrado cromanoles como los sargacromanoles (Li y col., 2017; Im y Seo, 2011). cromenos como mojabancromanol (Hewage y col., 2020) entre otros en extractos etanólicos.

Los resultados de diferentes investigaciones han demostrado que polisacáridos como el ácido alginico (Sarithakumari y col., 2013) y fucoidan (polisacárido sulfatado) presentes en sargazo

tienen una capacidad antioxidante importante, son potentes eliminadores de radicales libres y agentes anticancerosos (Jesumani y col., 2020). Sin embargo, su extracción es más complicada que la obtención del extracto etanólico, debido a que forman las paredes celulares de las algas y para su extracción se requieren técnicas asistidas con diferentes dispositivos como la extracción por microondas, ultrasonido, por enzimas, la extracción con agua caliente presurizada y la extracción de fluidos supercríticos (Devi y col., 2019).

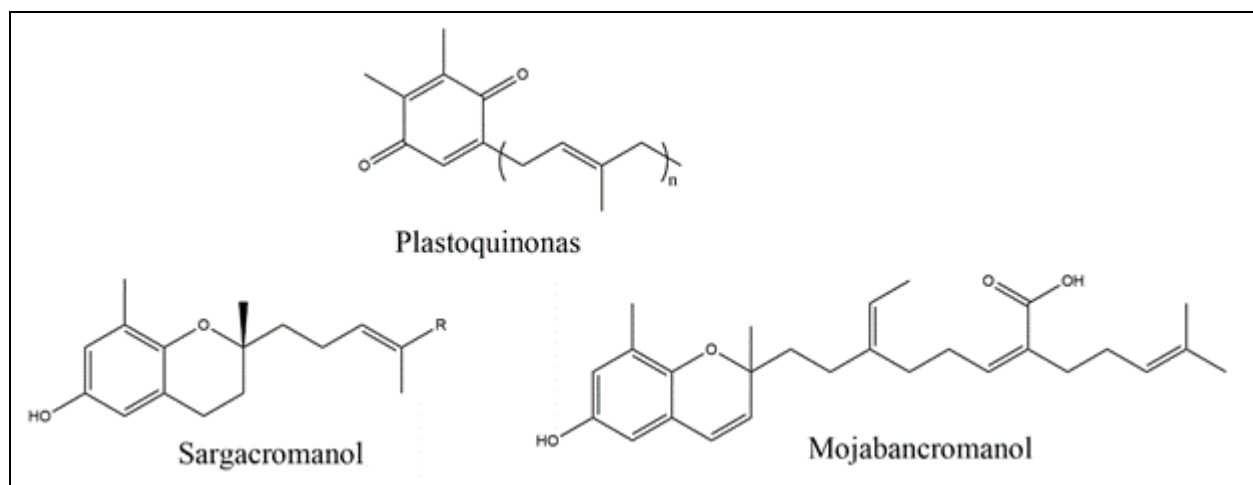


Figura 11. Estructura de plastoquinona y derivados del cromeno.

Por todo lo anterior expuesto, es probable que en extracto etanólico obtenido de acuerdo con la forma en que lo tratamos encontremos las especies como compuestos fenólicos, florotaninos, terpenoides, quinonas isoprenoides como el ácido sargaquinoico y sargahidroquinoico, flavonoides, sargasumol y cromenos. La fucoxantina es muy inestable y se degrada fácilmente bajo la influencia de la temperatura, luz y pH probablemente no la encontremos en nuestro extracto.

Conclusiones

El ensayo FRAP permitió la determinación de la capacidad antioxidante de la muestra de sargazo colectada en Campeche.

La capacidad antioxidante en sargazo está sujeta a una gran variabilidad, depende de manera importante de la cantidad de radiación UV que incide sobre el mismo.

La bibliografía indica que son variados los compuestos antioxidantes encontrados en sargazo que pueden extraerse en etanol como los compuestos fenólicos, florotaninos, terpenoides, quinonas isoprenoides como el ácido sargaquinoico y sargahidroquinoico, flavonoides, sargasumol y cromenos.

Agradecimientos

Trabajo realizado con el apoyo del Programa UNAM-DGAPA-PAPIME 210820. Se agradece a J. C. Aguilar Cordero, J. J. Recillas Mota, O. Zamora Martínez, F. E. Mercader Trejo, R. Herrera Basurto, I. Zaldivar Coria colaboradores del proyecto y a la Dra. Araceli Peña Álvarez. También se da un agradecimiento a la Ing. Judit Pérez Zaragoza por sus diseños.

Referencias

Anaëlle, T., Serrano, L. E., Laurent, V., Elena, I., Mendiola, J. A., Stéphane, C., Nelly, K., Stéphane, L. B., Luc, M., Valérie, S-P. (2013) Green improved processes to extract bioactive phenolic compounds from brown macroalgae using *Sargassum muticum* as model. *Talanta* 104: 44–52. DOI: 10.1016/j.talanta.2012.10.088

Benzie, I. F. F., Strain, J. J (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochem.* 239: 70–76. DOI: 10.1006/abio.1996.0292

Boi, V. N., Cuong, D. X., & Vinh, P. T. K. (2017). Effects of extraction conditions over the phlorotannin content and antioxidant activity of extract from brown algae *Sargassum serratum* (Nguyen Huu Dai 2004). *Free Radicals and Antioxidants*, 7(1): 115-122. DOI: 10.5530/fra.2017.1.17

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., Berset, C. (1995) Use of a free Radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1): 25-30. DOI: 10.1016/S0023-6438(95)80008-5

Budhiyanti, S. A., Raharjo, S., Marseno, D. W., Lelana, I. Y. B. (2012) Antioxidant Activity of Brown Algae *Sargassum* species Extract from the Coastline of Java Island. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences*, 7 (3): 337-346.

Casas, M. P., Conde, E., Domínguez, H., & Moure, A. (2019). Ecofriendly extraction of bioactive fractions from *Sargassum muticum*. *Process biochemistry*, 79: 166-173. DOI: 10.1016/j.procbio.2018.12.021

Cho, S. H., Cho, J. Y., Kang, S. E., Hong, Y. K., & Ahn, D. H. (2008). Antioxidant activity of mojabanchromanol, a novel chromene, isolated from brown alga *Sargassum siliquastrum*. *J. Environ. Biol*, 29: 479-484.

Cho, S., Kang, S., Cho, J., Kim, A., Park, S., Hong, Y., A, D. (2007) The antioxidant properties of brown seaweed (*Sargassum siliquastrum*) extracts. *Journal Medicinal Food* 10 (3):479-485. DOI: 10.1089/jmf.2006.099.

Dang, T.T., Bowyer, M.C., Van Altena, I. A., Scarlett, C.J. (2018) Optimum conditions of microwave-assisted extraction for phenolic compounds and antioxidant capacity of the brown alga *Sargassum vestitum*. *Separation Science and Technology*, 53(11): 1711–1723. DOI: 10.1080/01496395.2017.1414845.

Devi, H. M., Kumar, A., Tejpal, C. S., Krishnamoorthy, E., Kishore, P., Kumar, K. A. (2019) Isolation of crude fucoidan from *Sargassum wightii* using conventional and ultra-sonication extraction methods. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre*. 20, 100200. DOI: 10.1016/j.bcdf.2019.100200.

Eyong, K. O., Kuete, V., Efferth, T. (2013) Quinones and Benzophenones from the Medicinal Plants of Africa. In *Medicinal Plant Research in Africa*. (pp. 351-391). Elsevier Inc. DOI: 10.1016/B978-0-12-405927-6.00010-2

Fouda, W. A., Ibrahim, W., Ellamie, A. M., Ramadan, G. (2019) Biochemical and mineral compositions of six brown seaweeds collected from Red Sea at Hurghada Coast. *Indian Journal of Geo Marine Sciences* 48 (04), 484-491.

García, J. R., De La Rosa, L. A., González Barrios, A. G., Herrera Duenez, B., López Díaz, J. A., González-Aguilar, G. A., Ruiz Cruz S., Álvarez Parrilla, E. (2011). Cuantificación de polifenoles y capacidad antioxidante en duraznos comercializados en Ciudad Juárez, México. *Tecnociencia Chihuahua*, 5(2), 67-75. Disponible en: <https://vocero.uach.mx/index.php/tecnociencia/article/view/696>. Fecha de consulta: 12 de enero de 2021.

Gheda, S., Abdel, N. M., Mohamed, T., Pereira, L., Khamis, A. (2021) Antidiabetic and antioxidant activity of phlorotannins extracted from the brown seaweed *Cystoseira compressa* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 1-16. 28:22886–22901. DOI: 10.1007/s11356-021-12347-5.

Giriwono, P. E., Iskandriati, D., Ping, T. C., Andarwulan, N. (2019) *Sargassum* Seaweed as a Source of Anti-Inflammatory Substances and the Potential Insight of the Tropical Species: A Review. *Marine Drugs*, 17(10), 590. DOI:10.3390/md17100590.

González, B., Fuertes, C., Yauri, C., Vega, K. (2017) Compuestos bromofenólicos y actividad antioxidante de extractos del alga roja *Polysiphonia paniculata* montagne. *Ciencia e Investigación* 20(1): 9-14. DOI: 10.15381/ci.v20i1.14315.

Herath, K. H. I. N. M., Kim, H. J., Mihindukulasooriya, S. P., Kim, A., Kim, H. J., Jeon, Y. J., Jee, Y. (2020) *Sargassum horneri* extract containing mojabanchromanol attenuates the particulate matter exacerbated allergic asthma through reduction of Th2 and Th17 response in mice. *Environmental Pollution* 265, 1140942. DOI: 10.1016/j.envpol.2020.114094.

Hermund, D. B. (2018) Antioxidant Properties of Seaweed-Derived Substances. In *Bioactive Seaweeds for Food Applications* (pp. 201-221) Academic Press. DOI: 10.1016/B978-0-12-813312-5.00010-8.

Huet Breña, C. (2017). Métodos analíticos para la determinación de antioxidantes en muestras biológicas. Universidad Complutense, Facultad de Farmacia. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/id/eprint/54713/1/CRISTINA%20HUET%20BRE%C3%91A.pdf>. Fecha de consulta: 19 de mayo de 2021.

Hwa, J. K., Ho, L. B., Wook, C. B., Lee, H-S., Shin, J. (2005) Chromenes from the Brown Alga *Sargassum siliquastrum*. *Journal of natural products*, 68(5): 716-723. DOI: 10.1021/np058003i
Im, L. J., Seo, Y. (2011) Chromanols from *Sargassum siliquastrum* and Their Antioxidant Activity in HT 1080 cells. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 59(6): 757—761. DOI: 10.1248/cpb.59.757

Iwashima, M., Mori, J., Ting, X., Matsunaga, T., Hayashi, K., Shinoda, D., Saito, H., Sankawa, U., Hayashi, T. (2005) Antioxidant and Antiviral Activities of Plastoquinones from the Brown Alga *Sargassum micracanthum*, and a New Chromene Derivative Converted from the Plastoquinones, *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(2): 374—377. DOI: 10.1248/bpb.28.374

Jesumani V., Du, H., Pei, P., Aslam, M., Huang, N. (2020) Comparative study on skin protection activity of polyphenol-rich extract and polysaccharide-rich extract from *Sargassum vachellianum*. *PLoS ONE* 15(1): e0227308. DOI: 10.1371/journal.pone.0227308

Kim, C., Lee, I-K., Youn, C. G., Oh, K-H., Lim, Y. W., Yun, B-S. (2012) *Sargassumol*, a novel antioxidant from the brown alga *Sargassum micracanthum*. *The Journal of Antibiotics* 65:87–89

Kim, H-S., Wang, L., Priyan, S. I., Je, J-G., Ko, A-C., Cheol, K. M., Min, L. J., Yim, M-J., Jeon, Y-J., Lee, D-S. (2020) Antioxidant efficacy of (–)-loliolide isolated from *Sargassum horneri* against AAPH-induced oxidative damage in Vero cells and zebrafish models in vivo. *Journal of Applied Phycology* 32(5) :3341–3348. DOI: 10.1007/s10811-020-02154-9.

Klejdus, B., Plaza, M., Snóblova, M., Lojková, L. (2017) Development of new efficient method for isolation of phenolics from sea algae prior to their rapid resolution liquid chromatographic–tandem mass spectrometric determination. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 135: 87–96. DOI: 10.1016/j.jpba.2016.12.015.

Lee, J. M., Jeon, J. H., Yim, M-J., Choi, G., Seok, L. M., Gyeong, P. Y., Lee, D-S. (2020) Comparison of fucosterol content in algae using high-performance liquid chromatography. *Fisheries and Aquatic Sciences* 23:9, 1-6. DOI: 10.1186/s41240-020-00153-y

Li, Y., Fu, X., Duan, D., Liu, X., Xu, J., Gao, X. (2017) Extraction and identification of phlorotannins from the brown alga, *Sargassum fusiforme* (Harvey) Setchell. *Marine Drugs* 15(2): 49. DOI: 10.3390/md15020049.

Lim, S., Choi, A. H., Kwon, M., Joung, E. J., Shin, T., Lee, S. G., Kim N. G., Kim, H. R. (2019). Evaluation of antioxidant activities of various solvent extract from *Sargassum serratifolium* and its major antioxidant components. *Food chemistry*, 278: 178-184. DOI: 10.1016/j.foodchem.2018.11.058

Liu, J., Wu, S. Y., Chen, L., Li, Q. J., Shen, Y. Z., Jin, L., Zhang, X., Chen P. C., Wu, M. J., Choi, J. I., Tong, H. B. (2020). Different extraction methods bring about distinct physicochemical properties and antioxidant activities of *Sargassum fusiforme* fucoxanthins. *International journal of biological macromolecules*, 155, 1385-1392. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2019.11.113

Nakai, M., Kageyama, N, Nakahara, K., Miki, W. (2006) Phlorotannins as Radical Scavengers from the Extract of *Sargassum ringgoldianum*. *Marine Biotechnology* 8(4), 409-414. DOI: 10.1007/s10126-005-6168-9

Nie, J., Chen, D., Lu, Y., Dai, Z (2021) Effects of various blanching methods on fucoxanthin degradation kinetics, antioxidant activity, pigment composition, and sensory quality of *Sargassum fusiforme*. *LWT - Food Science and Technology* 143, 111179. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.111179

Norra, I., Aminah, A., & Suri, R. (2016). Effects of drying methods, solvent extraction and particle size of Malaysian brown seaweed, *Sargassum* sp. on the total phenolic and free radical scavenging activity. *International Food Research Journal*, 23(4), 1558-1563.

Pinto, D. C. (Ed.). (2020). Seaweeds Secondary Metabolites: Successes in and/or Probable Therapeutic Applications. MDPI. DOI: 10.3390/books978-3-03928-301-9

Ragubeer, N., Limson, J. L., & Beukes, D. R. (2012). Electrochemistry-guided isolation of antioxidant metabolites from *Sargassum elegans*. *Food chemistry*, 131(1): 286-290. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.08.037

Ruslin, M., Akbar, F.H., Hajrah, Y. A., Subehan, S. (2018) Analysis of total flavonoid levels in brown algae (*Sargassum* sp. and *Padina* sp.) as analgesic drug therapy. *Asian Journal of pharmaceutical and clinic research*. 11(7) 81-83. DOI: 10.22159/ajpcr.2018.v11i7.25657

Sarithakumari, C. H., Renju, G. L., Muraleedhara, K. G. (2013) Anti-inflammatory and antioxidant potential of alginic acid isolated from the marine algae, *Sargassum wightii* on adjuvant-induced arthritic rats. *Inflammopharmacol* 21(13) :261–268. DOI: 10.1007/s10787-012-0159-z

Tomasina, F., Carabio, C., Celano, L., Thomson, L. (2012). Analysis of two methods to evaluate antioxidants. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 40(4), 266-270. DOI: 10.1002/bmb.20617

Xiaojun, Y., Xiancui, L., Chengxu, Z., & Xiao, F. (1996). Prevention of fish oil rancidity by phlorotannins from *Sargassum kjellmanianum*. *Journal of Applied Phycology*. 8(3), 201-203. DOI: 10.1007/BF02184972

Yan, X. J.; Chuda, Y.; Suzuki, M.; Nagata, T. Fucoxanthin as the major antioxidant in *Hijikia fusiformis*, a common edible seaweed. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*. 63(3), 605-607. DOI: 10.1271/bbb.63.605

Yin, C. H., Chi, J. M. W., Ang, P O., Kim, J-S., Chen, F. (2003) Seasonal variations of bromophenols in brown algae (*Padina arborescens*, *Sargassum siliquastrum*, and *Lobophora variegata*) collected in Hong Kong. *J. Agric. Food Chem.* 51, 2619–2624

Zhang, R., Zhang, X., Tang, Y., & Mao, J. (2020). Composition, isolation, purification and biological activities of *Sargassum fusiforme* polysaccharides: A review. *Carbohydrate polymers*, 228, 115381. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115381

Zhen, X-H., Quan, Y-C., Jiang, H-Y., Wen, Z-S., Qu, Y-L., Guan, L-P. (2015) Fucosterol, a sterol extracted from *Sargassum fusiforme*, shows antidepressant and anticonvulsant effects. *European Journal of Pharmacology* 768, 131–138. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.10.041

Zubia, M., Payri, C., Deslandes, E. (2008) Alginate, mannitol, phenolic compounds and biological activities of two range-extending brown algae, *Sargassum mangarevense* and *Turbinaria ornata* (Phaeophyta: Fucales), from Tahiti (French Polynesia) *Journal of Applied Phycology*, 20(6) :1033–1043. DOI: 10.1007/s10811-007-9303-3